UNIVERSITÉ DE STRASBOURG - FACULTÉ DE PHARMACIE

1921-22 No. 11

CONTRIBUTION A L'ETUDE

DE

L'ACTION DE QUELQUES TERRES RARES

SUR

L'ASPERGILLUS FUMIGATUS FR.

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 25 Juillet 1922

à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

pour obtenir le Grade de Docteur de l'Université (Mention Pharmacie)

par

PAUL BAILLY

Pharmacien de 1re Classe de la Faculté de Nancy

Préparateur de Bactériologie et Cryptogamie à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Né à Nancy le 1er Février 1892

Examinateurs de la Thèse { MM. SARTORY, *Professeur*, Président ; LAVIALLE, „ ; GAUTIER, „ } Juges

1922

Imprimerie Gutenberg, Strasbourg

15, Rue des Bouchers.

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG - FACULTÉ DE PHARMACIE

1921-22 No. 11

CONTRIBUTION A L'ETUDE

DE

L'ACTION DE QUELQUES TERRES RARES

SUR

L'ASPERGILLUS FUMIGATUS FR.

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 25 Juillet 1922

à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

pour obtenir le Grade de Docteur de l'Université (Mention Pharmacie)

par

PAUL BAILLY

Pharmacien de 1re Classe de la Faculté de Nancy

Préparateur de Bactériologie et Cryptogamie à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Né à Nancy le 1er Février 1892

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Examinateurs de la Thèse { MM. SARTORY, *Professeur,* Président; LAVIALLE, „ } Juges; GAUTIER, „ }

1922

Imprimerie Gutenberg, Strasbourg

15, Rue des Bouchers.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur A. SARTORY

Chevalier de la Légion d'Honneur
Officier de l'Instruction Publique

Témoignage de vive reconnaissance

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548024_0044

A MES PARENTS

Témoignage d'affectueuse reconnaissance

A MA FEMME

Témoignage d'Amour

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG - FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. JADIN, Doyen, ✻, ✪ I.
BRÆMER, Assesseur, ✻, ✪ I.
RENARD, Secrétaire.

PROFESSEURS

MM.	BRÆMER, ✻, ✪ I.	Matière médicale.
	JADIN, ✻, ✪ I.	Pharmacie chimique.
	LABORDE, ✪ I.	Chimie organique.
	SARTORY, ✻, ✪ I, ❀	Bactériologie.
	LAVIALLE, ✪ A.	Botanique.
	GAUTIER, ✪ I.	Pharmacie galénique
	N.	Analyse chimique.

CHARGÉ DE COURS

M.	VOLMAR, ✪ A.	Chimie minérale.

COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.	VOLMAR, ✪ A.	Physique.
	N.	Toxicologie.
	GAUTIER, ✪ I.	Zoologie.
	LABORDE, ✪ I.	Chimie biologique.
	SARTORY, ✻, ✪ I, ❀	Botanique cryptogamique.
	BRÆMER, ✻, ✪ I.	Législation et Déontologie.
	LOBSTEIN, ✪ A	Hydrologie et Hygiène.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	LOBSTEIN, ✪ A.	Chimie et Physique.
	COLLARD	Chimie pharmaceutique.
	GARNIER	Micrographie.
	MAIRE	Bactériologie et Parasitologie.

INTRODUCTION

Depuis que la Chimie a permis d'isoler et d'obtenir les sels des Terres rares purs, de nombreux auteurs ont étudié les propriétés de ces sels, en particulier leur action biologique sur les microbes et principalement sur la tuberculose. S'inspirant de leurs résultats mon Maître Monsieur le Professeur SARTORY *m'a donné l'idée d'étudier l'action de ces terres rares sur les cultures de Champignons inférieurs, en prenant pour mes expériences une espèce pathogène pour l'homme, l'ASPERGILLUS FUMIGATUS Fr., agent de pseudo-tuberculoses pulmonaires parfois fort graves.*

Mes recherches ont été faites au Laboratoire de M. le Professeur SARTORY. *Je suis heureux de pouvoir exprimer à mon Maître toute ma reconnaissance pour les conseils qu'il m'a donnés au cours de ce travail et pour l'intérêt bienvaillant qu'il m'a toujours témoigné.*

Ma reconnaissance va aussi à Monsieur le Professeur JADIN, *Doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg et à MM. les professeurs* LAVIALLE *et* GAUTIER *qui ont bien voulu accepter de faire partie de mon Jury.*

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à mes anciens Maîtres de la Faculté de Nancy, qui m'ont enseigné les Sciences et développé en moi le goût des recherches de Laboratoire si intéressantes.

Je remercie Monsieur FROUIN *de l'amabilité qu'il a eu de mettre gracieusement à ma disposition les sels de Terres rares dont j'avais besoin.*

HISTORIQUE

Dès 1751 CRONSTEDT (1) découvre dans une mine de Bastanaès une terre qu'il appelle *cérite*. Un peu plus tard en 1784 deux Chimistes BERGMANN et ELHUYAR (2) confondent les sels de Terres rares avec de la chaux. En 1794 GADOLIN (3) découvrit dans une minerai appelé depuis Gadolinite une Terre nouvelle. Quelques années plus tard VAUQUELIN découvre la *glucine*. En 1802 ECKEBERG (4) reprend les travaux de GADOLIN donne le nom d'*Yttria* aux Terres rares qu'il rencontre et réussi à en isoler la *glucine*.

En étudiant l'yttria BERZELIUS (5) en 1814 prouva que cet yttria contenait de l'*oxyde de cérium*.

Enfin MOSANDER (6) 1839 annonça que l'oxyde de *cérium* était un mélange de *cérium* et de *lanthane*. Plus tard, en 1842(7), il trouve dans ce même oxyde de *cérium* une nouvelle terre, le *didyme* qui lui même a été décomposé ensuite. En 1843 MOSANDER annonça que l'yttria renfermait trois oxydes: *l'yttria, la terbia et l'erbia.*

Plus tard, M. BERLIN montra que la *Terbia* n'était autre qu'un mélange d'*yttria et d'erbia*. En 1886, MM. BAHR et BUNSEN étudient les deux corps alors isolés, l'*yttrium* et *l'erbium*, et en donnèrent quelques propriétés et caractères.

MM. CLEVE et HOEGLUND (8) ont isolé et purifié ces Terres, ils en donnent les propriétés suivantes: Sulfate d'yttrium: Petits cristaux transparents, perdant leur eau de cristallisation,

(1) Cronstedt Sv. Akad. Handl. p. 227. (1751).

(2) Bergmann et Elhuyar Sv. Akad. Handl. p. 121 (1784).

(3) Gadolin Sv. Akad. Handl. p. 137 (1794).

(4) Eckeberg An Crell's p. 2. 63 (1799).

(5) Berzelius et Hissinger An. Ch. Ph. p. 50-245 (1804).

(6) Mosander An Ch. Ph. 3 p. 11-464 (1839).

(7) Mosander An Ch. Ph. p. 44-125 (1842).

(8) Contribution à la Chimie des métaux rares. Yttrium Erbium. Bull. Soc. Ch. série 2 T. XVIII page 193 et 289.

à 115°. 100 parties d'eau à la température ordinaire dissolvent 15 parties, 2 de sulfate anhydre et la solution laisse déposer à 50° le sel cristallisé.

Ils ont trouvé comme densité de ce sel 2.52 et comme poids atomique de 59.75 à 59.62.

Le sulfate *d'erbium* cristallise comme le sulfate d'Yttrium mais en cristaux roses se deshydratant vers 80 à 90°, à 0° solubilité de 43 % de sel anhydre, à 55° le sel commence à cristalliser, à la température ordinaire solubilité 30 % de sel cristallisé et à 100° cette solubilité tombe à 10 %.

En 1872 COSSA (1) signale qu'il a trouvé du *cérium*, du *lanthane* et du *didyme* dans la Schéclite compacte de Meynac, dans la Staffelite de Nassau et dans les phosphorithes, ostéolithes et caprolithes de plusieurs provenances. Puis il a essayé les calcaires, en attaquant deux kilogrammes de marbre saccharoïde de Carrara, il a pu obtenir un mélange des oxalates de *cérium*, de *lanthane* et de *didyme*, dans la proportion d'environ 0, g 02 par kilogramme de calcaire. Avec le calcaire coquillier d'Avellino il en a obtenu 0, g 10 par kilogramme. En opérant sur des os lavés, il a pu en retirer 0, g 03 d'oxalates de ces métaux par kilogramme. COSSA à la suite de ces travaux croit pouvoir affirmer, que le *cérium*, le *lanthane* le *didyme* doivent être mis parmi les métaux les plus répandus dans la nature, et qu'ils entrent dans la composition des êtres organisés.

CLEVE en 1874 (2) publie une étude complète du *thorium*, il en détermine le poids atomique et il étudie les différentes combinaisons de cette terre.

Ce même auteur, étudie ensuite le lanthane (3) et ses combinaisons, il donne une méthode de préparation du lanthane que nous reproduisons. «La meilleure méthode pour obtenir *l'oxyde de lanthane* pur consiste à précipiter incomplètement par l'ammoniaque une solution de nitrate mixte de *lanthane* et de *didyne*, la majeure

---

(1) Comptes rendus Acad. des Scien. 2 Sept. 1878 page 378 Tome LXXXVII. — Sur la diffusion du cérium du lanthane, du didyme (Lettre de Cossa à M. SELLA).

(2) Clève Bul. Soc. Chimie tome 21, 2ᵉ série page 115 (1874).

(3) Clève Bul. Soc. Chim. Tome 21, 2ᵉ série page 196-246-344 (1874).

partie du *didyme* se précipite d'abord à l'état d'azotate basique, par des précipitations partielles, réitérées on obtient finalement une solution ne renfermant plus que le *lanthane*, que l'on précipite par l'acide oxalique. L'oxalate fournit l'oxyde pur par calcination. » Il détermine le poids atomique qui est 139 et passe en revue les différentes combinaisons du lanthane. Il étudie successivement le *didyme* ses combinaisons, l'*erbium* et *l'yttrium*.

JOLIN (1) en 1874 publie aussi une étude sur les combinaisons du cérium.

Fl. NILSON (2) prépare le *thorium* métallique en fondant dans un creuset en fer, le chlorure double de thorium et de potassium avec du sodium et du chlorure de sodium. Après le traitement du résidu par l'eau, il reste une poudre grisâtre, brillante, composée en partie de cristaux microscopiques.

En 1878, Marc DELAFONTAINE (3) signale qu'il a réussi à isoler de la Samarskite une nouvelle terre du groupe de l'yttria, mais différent de la terbine, il l'appelle le *philippium*. En 1898, C. WYROUBOFF et A. VERNEUIL (4) se sont appliqués à trouver des méthodes de séparation plus sûres et plus rationnelles que celles employées jusqu'alors, ils se sont surtout occupés de la séparation des oxydes de *cérium* et de *thorium*.

P. SCHUTZENBERGER et O. BOUDOUARD (5) ont porté leurs recherches sur les terres yttriques que contiennent les sables monazités, qui sont constitués par un phosphate des terres rares (*cérium*, *didyme*, *lanthane*, *yttrium*), de la thorine, de la zircone, de l'oxyde de titane et de la silice. Ils ont employés pour cela la méthode des cristallisations fractionnées.

En 1885 M. AUER de WELSBACH indiquait une méthode permettant de séparer le *lanthane* du *didyme* et de partager le *didyme* en *néodyme* et *praséodyme*. O. BOUDOUARD (6) a repris

---

(1) JOLIN. Le cérium et ses composés. Bull. Soc. Chim. Tome 21 2e série, page 533 (1874).

(2) Fl. NILSON. Deutsche Chemische Gesellschaft Tome 15 p. 2537 à 2547.

(3) C. R. Acad. Sc. 14 octobre 1878, page 559.

(4) Bull. Soc. Chim. Tome 19, série 3, page 219.

(5) Bull. Soc. Chim. Tome 19, série 3, page 10

(6) Bull. Soc. Chim. Tome 19, série 3, page 382.

ces expériences et montre les différences des spectres du *didyme*, *praséodyme* et *néodyme*.

P. LEBEAU (1) en 1898 prépare à l'état de pureté le *glucinium* par électrolyse.

DEMARCAY (2) en étudiant le spectre et la nature du *néodyme*, prouve que cette Terre est bien un corps simple et non un mélange. Les faibles traces de *praséodyme*, *samarium* ou *terbium* altèrent sa couleur qui est bleu clair franc avec reflets lilas.

Malgré toutes ces recherches et ces travaux MOISSAN (3) disait en 1904 au sujet des Terres rares: « Aujourd'hui, cette étude est loin d'être achevée et il est probable que l'énumération actuelle de ces éléments est appelé à subir dans l'avenir de nombreuses modifications. »

A la suite de ce que nous connaissons sur les différentes terres rares on a convenu de les classer en quatre groupes (4).

1. Métaux diatomiques: *Glucinium.*

Les métaux triatomiques, que l'on divise en deux groupes qui sont les deux suivants:

2. Le groupe cérique qui comprend: *Cérium. Lanthane, Praséodyme, Néodyme, Samarium, Gadolinium et Dyspronium.*

3. Le groupe Yttrique comprenant: *Yttrium, Terbium, Erbium, Holmium, Thulium, Ytterbium* et *Scandium.*

4. *Le Thorium.*

Les poids atomiques de quelques-unes de ces Terres sont :

Yttrium, 89 Lanthame 138,9 Praséodyme 140,6 Néodyme 143,6 Erbium 166, Thorium 232,5.

---

(1) C. R. Soc. Ch. t. 126, page 174 (1898).

(2) C. R. Soc. Ch. T. 126, page 1039 (1898).

(3) Traité de Chimie Minérale 1904, Moissan.

(4) Mousalli: Thèse Doctorat Pharmacie, Nancy.

ACTION BIOLOGIQUE DES TERRES RARES SUR LES MICROBES

Dans une note parue le 15 juin 1912, FROUIN et Mlle LEDEBT (1) signalent que: « Nous avons cherché si la magnésie pouvait être remplacée par d'autres sels et en particulier par les Terres rares. Nous avons étudié l'action des sulfates de *thorium, lanthane, néodyme, praséodyme, samarium* sur le développement du B. pyocyanique et la production de ses pigments. Nous ferons remarquer que des doses de 0, g 10 par litre sont suffisantes pour la formation de la pyocyanine et que des doses de 1 gramme par litre pour les sulfates de *néodyme* et de *praséodyme*, agissent comme antiseptique et s'opposent au développement du microbe.»

Le 22 juin, FROUIN (2) publie les résultats de l'action des terres rares sur le développement du bacille tuberculeux, il résume en disant: « A la dose de 0, gr. 005 pour 100 de milieu nutritif, (milieu chimique de composition bien déterminée) et peut-être à des doses inférieures, ces divers sels favorisent le développement du bacille tuberculeux; à des doses plus élevées cette action favorissante est beaucoup moins marquée; enfin à la dose de 0 gr. 10 % les sulfates de *néodyme* et *praséodyme* ont empéché tout développement du bacille tuberculeux, montrant ainsi une action antiseptique énergique. »

Considérant que les sels de Terres rares se classent parmi les alcalino-terreux, FROUIN a cherché si l'on pouvait remplacer la magnésie contenue dans le milieu employé par les sels de Terres rares, tous les résultats ont été négatifs.

M. Victor HENRY (3) donne une explication de ces différents modes d'action des Terres rares. Ce serait dû à ce que ces corps présentent deux états d'oxydation différents et agissent ainsi comme catalyseur dans les réactions d'oxydation. Comme les bacilles tuberculeux sont très avides d'oxygène, il leur faut produire pour

(1) Action du Vanadate de Soude et des Terres Rares sur le développement du bacille pyocyanique et la productâion de ses pigments (Frouin et Mlle Ledebt. C. R. Soc. Biol. Année 1912, Tome 72, page 981.

(2 et 3) Action des sels de vanadium et des Terres rares sur le développement du bacille tuberculeux A. FROUIN. C. R. Soc. Ch. Biol. T. 72, page 1034 (1912).

leur développement des oxydations énergiques. L'auteur émet l'hypothèse que les sels de Terres rares, activant les réactions d'oxydation, favorisent ainsi le développement du bacille tuberculeux. Quant au pouvoir antiseptique, il l'explique en disant, que ces réactions d'oxydation ont pour résultat de former de l'eau oxygénée et des produits à potentiel d'oxydation très élevée et cela en raison directe de la quantité de sel ajoutée. D'où l'action antiseptique dûe à un excès de ces produits secondaires.

Le 14 décembre, FROUIN (1) ayant recommencé ses expériences en remplaçant la magnésie par les Terres rares, essaya de cultiver l'Aspergillus Niger, mais il n'a pu obtenir que des résultats négatifs.

L'auteur a signalé que l'addition de sels de Terres rares a du liquide de Raulin retardait la sporulation de l'Aspergillus Niger.

Etudiant ensuite l'action des sels de Terres rares sur le bacille Subtilis (2), l'auteur constate que les modifications de cultures se produisent en présence des sels de *lanthane*. Ayant constaté une différence d'action du *thorium* et du *praséodyme* sur le bacille pyocyanique, il conclut qu'il y a des activités différentes et spécifiques de ces sels sur les fonctions ou les caractères biologiques des microbes.

A. FROUIN et A. MOUSSALLI (3) ont montré que l'addition de sels de Terres rares aux milieux de culture usuels, ou à des milieux chimiquement définis, favorise le développement des microbes et augmente le rendement en poids de la culture, s'ils sont employés à des doses du 10,000ième ou 20,000ième et peut-être à des doses inférieures. A la dose de 1 à 2 grammes par litre ils s'opposent au développement des micro-organismes. De plus ces sels modifient certaines propriétés biologiques et les caractères morphologiques de plusieurs espèces microbiennes.

Ils exercent une réaction agglutinante et précipitante sur les bactéries en émulsion, ainsi les sulfates *d'erbium*, de *lanthane*,

---

(1) FROUIN. C. R. Soc. Biol. Tome 73, page 640 (1912).

(2) FROUIN. C. R. Soc. Biol. Tome 74, page 196 (1913).

(3) FROUIN et A. MOUSSALLI. Action des Terres rares sur les bacilles dysentriques. C. R. Soc. Biol. Tome 82, page 973.

d'yttrium agglutinent complètement les bacilles types Flexner à la dose du 10,000ième en deux heures et à la dose du 20,000ième en 24 heures. Le sulfate de *thorium* s'est montré moins actif, il agglutine à la dose du 5,000ième en deux heures et 10,000ième en 24 heures.

Ces auteurs ont recherché l'action microbicide en traitant un volume d'émulsion microbienne par un volume égal de solution à 2 % de ces différents sels, il se produit une précipitation immédiate de microbes. Le contact a duré 48 heures. On décante et le précipité réensemencé dans des milieux de culture, a donné lieu à un développement abondant sur les milieux liquides et solides pour les bacilles traités par les sulfate de *lanthane*, d'*erbium* et *d'yttrium*. Les émulsions traitées par le sulfate de *thorium* sont restées stériles. Un contact d'une demie-heure en solution au 100ième suffit pour tuer les bacilles dysentriques

Ces expériences prouvent que le sulfate de *thorium* possède un pouvoir bactéricide très net sur les bacilles dysentriques.

FROUIN (1) a traité la dysentrie amibienne en faisant absorber au malade du sulfate de *thorium* en cachets à raison de 4 à 6 grammes pendant 4 jours, puis 4 grammes pendant 5 jours. Il donne en même temps 4 lavements de 200 gr. à 2 % de sulfate de thorium. Le malade a été complètement guéri.

S'inspirant des travaux de FROUIN (2) sur la modification leucocytaire à la suite d'injections de sels de Terres rares; GRENET et DROUIN (3) ont traité des tuberculeux par des injections intraveineuses à 2 % de ces sels, en particulier de sulfate de *néodyme*. Ils ont réussi sans autres traitement à tarir des fistules anciennes, à guérir des tuberculoses ganglionnaires, améliorer sensiblement des tuberculoses cutanées, des améliorations et des guérissons apparentes dans plusieurs cas de tuberculose pulmonaire. Voici leurs conclusions; « Tous les malades ont bénéficié du traitement et il semble que pour quelques-uns on puisse déjà parler de guérison. Tous ont suivi un traitement

(1) FROUIN. C. R. Soc. Biol. page 136 (3 février 1917).

(2) FROUIN et D. ROUDSKI. C. R. Ac Sciences, tome 149, page 410 (1914).

(3) GRENET et DROUIN. Bull. Acad. Médecine (1920, page 226).

ambulatoire employé seul sans l'adjonction d'aucun thérapeutique, ni même la cure de repos, qui pourtant reste indiquée. La plupart ont pu reprendre un métier parfois pénible, tel que souffleur de verre, boulanger. Le relèvement de l'état général, l'assèchement des lésions, des modifications physiques, une tendance manifeste à la sclérose, tels sont les résultats observés dans la tuberculose pulmonaire. »

D'autre part ces mêmes auteurs (1) disent que les bacilles contenus encore dans les crachats sont extrêmement modifiés; ils sont devenus grêles et ramifiés, ou trapus et granuleux et toujours mal colorables. Après inoculation au cobaye, dans trois cas, les cobayes ont maigri de 20 à 40 grammes les 15 premiers jours, puis ils ont repris du poids et après plus de deux mois, leur état semblait excellent.

Deux ont présenté un petit abcès au point d'inoculation, dans le pus on trouve des bacilles gros, courts, irréguliers de contours, agglutinés mais bien colorés. Chez un autre animal il n'est rien survenu d'anormal, un quatrième après quinze jours d'inoculation est en excellente santé, sans chancre d'inoculation. La virulence des bacilles est donc très diminuée à la suite des injections de sel de terres rares.

MM. A. LUMIERE et J. CHEVROTIER (2) en cultivant le bacille tuberculeux sur pommes de terre glycérinées ont remarqué que les sulfates de *lanthane, d'yttrium* et d'*erbium* à 2 pour 1,000 entravent cette culture.

M. FROUIN (3) a employé pour le traitement des ulcères variqueux, métrites, chancres mous, des pansements humides et lavages par des solutions glycérinées de sels de Terres rares, il a obtenu de bons résultats dans ces différents cas. « Les sels de Terres rares et en particulier les sulfates du groupe *cérique* qui sont moins irritants que les nitrates et les chlorures ont une action antiseptique. Les solutions de ces sels à 2 ou 4 pour cent

---

(1) GRENET et DROUIN. Bull. Soc. Méd. des Hop. (1920, page 589).

(2) A. LUMIERE et J. CHEVROTIER. Soc. de Thérap. 28 Mai 1913, page 309.

(3) FROUIN. Bull. Acad. Méd. (1920), page 337.

favorisent la cicatrisation, la formation du derme et des couches épithéliales.»

Dans une autre note FROUIN (1) conclut que « l'injection de sels de Terres rares détermine une survie très nette chez les animaux en provoquant la sclérose des organes atteints.»

Les actions différentes et si nettes des sels de Terres rares sur les propriétés biologiques des microbes nous ont engagé à rechercher l'action qu'ils pourraient avoir sur la vitalité, la morphologie des champignons inférieurs, ce qui fera l'objet de nos recherches personnelles.

(1) FROUIN. B. A. Méd. 1920, page 551.

CHAPITRE 1

DU POUVOIR ANTISEPTIQUE DES SELS DE TERRES RARES

Nos expériences primitives avaient pour but de nous rendre compte comment se comportaient les cultures *d'Aspergillus fumigatus* en présence de quantités variables de sels de Terres rares. Nous nous sommes toujours servi de milieux liquides. Sur ceux-ci, la répartition du sel est plus homogène, le développement des cultures plus abondant et leur récolte plus facile.

Nous avons employé le liquide de RAULIN dont la composition est la suivante:

Eau.	1,500 gr.
Sucre Candi	70
Acide tartrique	4
Nitrate d'Ammoniaque .	4
Phosphate d'Ammoniaque	0,60
Carbonate de Potasse . .	0,60
Carbonate de Magnésie .	0,40
Sulfate d'Ammoniaque .	0,25
Sulfate de Zinc	0,07
Sulfate de Fer	0,07
Silicate de Potasse . . .	0,07

et les sulfates de *Thorium*, de *Lanthane*, d'*Erbium* et d'*Yttrium*.

Avec chacun de ces sels nous avons fait une gamme de concentrations allant du 1,000ième au 10,000ième, en ajoutant à cinquante centimètres cubes de liquide de RAULIN, des sels de Terres rares en proportion telles que nous ayons les concentrations suivantes :

1,000ième, 2,000ième, 5,000ième et 10,000ième.

Les mélanges ont été mis à l'autoclave et portés à 100° pour dissoudre et combiner les sels au milieu. Le liquide de RAULIN étant un milieu essentiellement minéral, les sels de Terres rares réagissent sur l'un ou sur plusieurs des composants et donnent un précipité blanc pulvérulent en proportion variable avec la quan-

tité de sel ajoutée. Les Terres rares se classant parmi les métaux alcalino-terreux, ils se comportent comme ceux-ci en présence de l'ammoniaque et de ses sels.

Le mélange a été ensuite réparti dans des tubes à essais à raison de 10 cm3, en ayant soin de bien agiter de manière à maintenir le précipité bien en suspension durant toute la répartition. Les milieux ont été stérilisés à 110-115° pendant 20 minutes, après refroidissement ils ont été ensemencés avec une suspension de spores d'Aspergillus fumigatus dans du liquide de RAULIN, à raison d'une öse d'émulsion déposée à la surface du milieu de culture. De cette façon nous avons pu obtenir en ensemencement régulier et égal pour chaque tube.

Le tout a été placé à l'étuve à 37° avec un témoin constitué par dix centimètres cubes de liquide de RAULIN ensemencé comme précédemment.

Après cinq jours d'étuve nous avons examiné les cultures. Le témoin avait donné une culture abondante de la grosseur d'une noisette en forme de coupe, la partie en contact du liquide étant blanc crême et l'intérieur de la coupe recouvert d'appareils conidiens. Un détail nous a frappé à première vue, c'est que les cultures avaient un aspect différent suivant la concentration. Aux concentrations du 1,000ième, elles se bornent à une simple pellicule mycélienne portant des appareils reproducteurs, au 2,000ième même aspect, mais la pellicule est plissée et a tendance à s'enfoncer dans le liquide. Aux concentrations plus fortes, la culture prend la forme de coupe que nous avons décrite pour le témoin, toutefois le développement paraît moins abondant que chez celle-ci. En présente de ces résultats nous avons pensé qu'il serait intéressant de recommencer nos expériences, mais en partant de concentrations plus fortes en sels de Terres rares et employant deux nouveaux sels, les sulfates de *Néodyme* et de *Praséodyme*.

Nous avons donc constitué cette fois comme il a été dit plus haut une série de solutions allant du 100ième au 10,000ième, en passant par les 200, 300, 400, 500, 1,000 2,000, 5,000 et 10,000ièmes. Nous répartissons en tubes à raison de dix centimètres cubes, nous stérilisons, nous ensemençons avec une suspension de spores et nous mettons à l'étuve à 37° avec un témoin.

Nous examinons les cultures tous les jours. Après 48 heures

d'étuve, la plupart des tubes ont cultivé, on observe soit une légère pellicule, soit un petit amas mycélien blanchâtre comme celui constituant le témoin.

Sur le milieu à l'*erbium*, nous ne constatons aucun développement dans la concentration au 100ième, du 200ième au 10,000ième nous trouvons une pellicule de plus en plus accusée. Sur les autres milieux; *thorium*, tous les tubes ont cultivé sauf les concentrations aux 100ième et 200ième, de même pour le milieu au *néodyme*. Sur les milieux à l'Yttrium tous cultivent sauf celui au 100ième, de même le *lanthane*. Quant aux milieux au *praséodyme* les concentrations aux 100ième, 200ième, 300ième n'accusent aucun développement.

Le troisième jour l'examen nous montre un développement un peu plus accentué dans les différentes concentrations, on voit apparaître un léger voile dans le milieu au *néodyme* au 100ième et un début de mycélium dans le milieu au *praséodyme* au 300ième.

Trois jours après nouvel examen. Le témoin montre une culture abondante, plissée, recouverte à la partie supérieure de nombreux appareils conidiens. Sur milieu au *lanthane* au 100ième rien, du 200ième au 400ième pellicule mycélienne blanchâtre, quelques appareils conidiens. Aux concentrations plus faibles, les cultures ressemblent au témoin. Le milieu au *praséodyme* au 200ième présente une légère pellicule, aux 300 et 400ièmes; le développement est lent, mycélium blanc recouvrant la surface du liquide, dans les autres tubes le développement est normal. Sur milieu à *l'erbium* au 100ième rien, au 200ième culture faible, quelques appareils conidiens, au 400ième culture assez développée; aux concentrations plus faibles le développement est plus accentué. Le milieu à *l'yttrium* au 100ième ne donne rien, comme pour les autres sels, aux concentrations plus faibles l'aspect des cultures est sensiblement le même; le 100ième et 200ième au *thorium* ne donnent rien, les autres se développent bien. Le milieu au *néodyme* au 100ième présente une très légère pellicule, le 300ième montre une culture blanche recouvrant la surface, on voit quelques appareils conidiens.

Au bout d'une dizaine de jours de culture, tous les tubes cultivent, sauf ceux contenant les concentrations aux 100ième de tous

les sels. La légère pellicule apparue sur le *néodyme* au 100ième est restée stationnaire et très faible. Les cultures sont assez abondantes, elles prennent la forme d'une pezize, la partie en contact avec le liquide étant blanchâtre, la partie supérieure supportant les appareils conidiens.

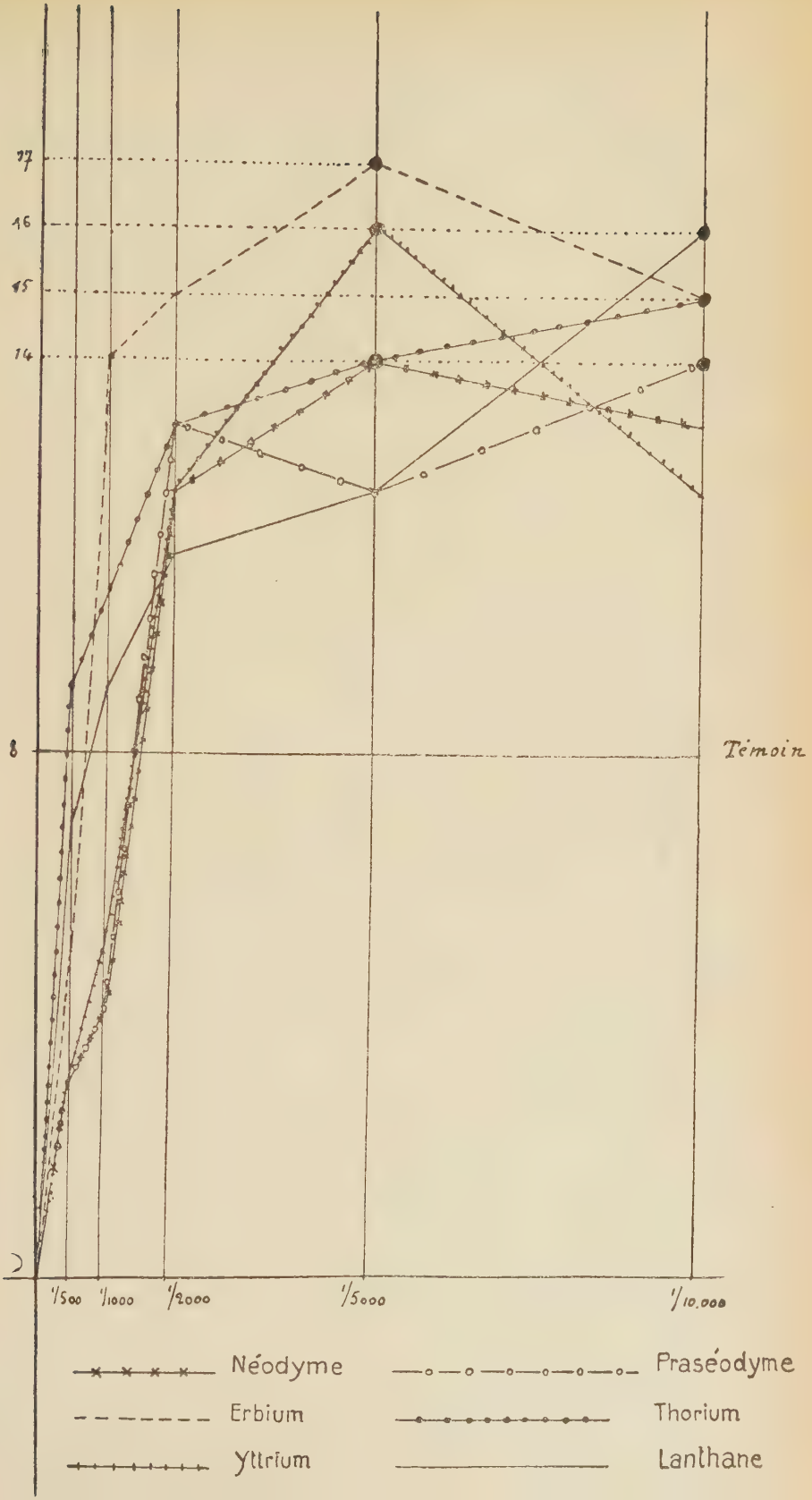
Au fur et à mesure que les cultures vieillissent, elle se développent, émettant des prolongements qui pénètrent dans le liquide, elles se plissent fortement, se contournent. La couleur blanche du début fait place à une teinte de plus en plus brunâtre, le liquide lui-même prend légèrement cette teinte. Les appareils conidiens existent en grande quantité sur toutes les cultures.

Si nous comparons ces cultures à la culture témoin, nous constatons alors qu'elles présentent des accroîssements inversement proportionnels aux concentrations, que les concentrations du 100ième au 1000ième donnent des cultures moins abondantes que la culture témoin, par contre les concentrations au 2000ième, au 5000ième et au 10,000ième donnent des cultures plus riches que ce dernier.

Après un mois d'étuve les cultures sont stérilisées 20 minutes à 120°, les récoltes sont recuillies sur des carrés de papier à filtrer, désséchées à 100° durant une heure et ensuite pesées.

Nous réunissons dans ce tableau les poids en milligrammes des cultures du 500ième au 10 000ième.

Dilutions	1/100	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10.000
Lanthane . .	0	7	9	11	12	16
Erbium . . .	0	5	14	15	17	15
Yttrium . . .	0	3	5	12	16	12
Thorium . . .	0	9	14	13	14	15
Praséodyme .	0	3	4	13	12	14
Néodyme . .	0	3	4	12	14	13
	Témoin 8					


17
16
15
14
8
Témoin
1/500
1/1000
1/2000
1/5000
1/10.000
Néodyme
Praséodyme
Erbium
Thorium
Yttrium
Lanthane

Avec les chiffres trouvés, nous construisons pour chaque sel une courbe représentative et ainsi nous constatons que cette courbe, partant de zéro, passe par un maximum qui se produit à la concentration au 5000ième pour les sels de *néodyme, d'yttrium, d'erbium,* à la concentration au 10.000ième pour les sels de *thorium,* de *praséodyme* et de *lanthane.* Nous constatons de même qu'à la concentration au 1000ième pour les sels de *thorium, d'erbium* et de *lanthane,* les poids des récoltes sont supérieurs à celui de la récolte témoin. Pour les sels de *néodyme, praséodyme, yttrium* ce résultat n'est atteint qu'à la concentration au 2000ième. A la concentration au 100ième, le développement est nul. La courbe montre aussi que les poids des cultures vont en augmentant jusqu'à un maximum lorsque les concentrations diminuent.

A la suite de ces résultats nous avons fait une série d'expériences en vases coniques d'Erlenmeyer de 125 cm3 contenant 50 cm 3 des concentrations aux 100ième, 500ième, 1,000ième, 2000ième, 5000ième et 10,000ième des différentes terres rares, nous stérilisions et ensemençons comme dans les expériences précédentes.

Au bout de deux jours le témoin présente une légère pellicule qui est un commencement de feutrage mycélien. Sur milieux à *l'yttrium,* les concentrations aux 500ième, 1000ième et 2000ième montrent un développement insignifiant, aux 5000ième et 10,000ième, mycélium blanchâtre plus petit que le témoin. Sur milieux au *néodyme,* les cultures sont croissantes du 500ième au 10.000ième. Cette dernière semble plus développée que le témoin. Sur milieux à *l'erbium,* du 500ième au 5000ième cultures identiques constituées par une légère pellicule, la culture sur solution au 10,000ième est plus petite que celle témoin.

Les résultats sur milieux au *praséodyme* sont sensiblement les mêmes que les précédents.

Sur milieux au *lanthane* au 500ième, légère pellicule, au 2000ième culture abondante nettement supérieure au témoin et aux autres cultures. Les cultures sur les milieux au *thorium* sont croissantes du 500ième au 5000ième, au 10.000ième la culture est légèrement plus forte que le témoin.

En général, le cultures au 500ième sont très faibles, un développement à peine marqué par un léger feutrage s'étalant en pellicule à la surface du liquide.

Après quelques jours, nous procédons à un nouvel examen. La culture témoin occupe le quart de la surface du liquide, le pourtour du disque que forme la culture est formé d'une légère pellicule, le centre est constitué par un mycélium blanc plissé sur lui-même et portant des appareils conidiens. Les concentrations aux 100ième et 500ième *d'yttrium*, *praséodyme* et *lanthane* ne donnent aucun développement.

Les autres concentrations des différents sels, sauf celles au 100ième, donnent des cultures ressemblant beaucoup à la culture témoin.

Après quelque temps, sur les concentrations au 500ième de tous les sels, le développement est faible, les autres cultures végètent normalement. Après un mois, les cultures au 500ième de *lanthane* et *thorium* sont peu abondantes formant quelques ilots. Les autres cultures présentent un développement plus intense, constitué surtout par un mycélium blanc, lâche, duveteux, ressemblant à une forme pléomorphique et ayant peu d'appareils conidiens, surtout pour les milieux aux *néodyme* et *praséodyme*, celles à *l'yttrium* et à *l'erbium* portent des appareils conidiens, mais moins fournis que sur les concentrations faibles.

Nous stérilisons et désséchons les récoltes à 100°, sauf celles de lanthane et de thorium au 500ième, qui nous serviront pour étudier plus tard les modifications morphologiques dues aux terres rares.

Après pesées, nous constatons qu'à partir du 2000ième les poids des cultures se confondent avec celui de la culture témoin, en dessous du 2000ième, les poids sont inférieurs à celui du témoin, pour aller jusqu'à 0 pour les solutions au 100ième des différents sels de terres rares.

De ces différentes expériences nous déduisons que les sels de terres rares ont une action marquée sur le développement de l'Aspergillus Fumigatus. Une action antiseptique avec les concentrations fortes, et une action favorisante avec les concentrations faibles. A la dose de 1 pour 100, les différents sels de terres rares employés empêchent tout développement du Champignon.

CHAPITRE II

MODIFICATIONS MORPHOLOGIQUES DU MYCELIUM

En cultivant *l'Aspergillus Fumigatus* sur milieu au *thorium* et au *lanthane* au 500ième, nous avons été frappé des différences que présentaient ces cultures avec la culture *témoin* et celles contenant les autres terres aux mêmes doses. Nous avons ainsi été amené à les étudier spécialement. Nous décrirons d'abord ici l'aspect macroscopique, puis nous examinerons au microscope un fragment des différents mycéliums.

Les milieux au 500ième ensemencés ont été placés à l'étuve à 37°. Après 48 heures nous faisons un premier examen macroscopique; nous constatons sur le milieu au *thorium* quelques îlots constitués par un feutrage blanc, paraissant assez serré, donnant ainsi à la culture un aspect rigide, ramassé.

Sur le milieu au *lanthane*, le mycélium paraît plus lâche, moins compact, ayant plutôt tendance à s'étaler.

Après quelques jours d'étuve, nous procédons à un nouvel examen. Les îlots de la culture poussant sur le milieu contenant du sulfate de *thorium* se sont peu développés, ils sont ratatinés, repliés sur eux-mêmes comme s'ils voulaient s'enrouler. Le mycélium est très condensé, très ferme, il prend un aspect cartonneux blanc avec pourtant quelques zônes très légèrement vertes, dues à la présence de quelques appareils conidiens. En suspension dans le liquide ou reposant au fond du matras, apparaît un mycélium ayant un aspect spécial, des colonies nettement sphéroïdales mesurant deux millimètres de diamètre environ. Ces colonies se développent au sein du liquide, gardent leur aspect particulier et atteignent ensuite de 4 à 5 millimètres de diamètre. Elles sont sphériques, sans aspérité, si nous essayons de les recueillir à l'aide d'un fil de platine flambé, elles adhérent facilement au support, se déforment et s'aplatissent dès qu'on les retire du liquide.

Dès le deuxième examen, l'aspect de la culture sur milieu au *lanthane* est plus différent encore de la précédente. Ici toute la surface du liquide est recouverte par le mycélium blanc, celui-ci est lâche formant une pellicule assez consistante, régulière ne présentant pas de zône verdâtre. Les filaments mycéliens sont enchevêtrés, la pellicule plongeant facilement dans le liquide est de ce fait difficile à dissocier, surtout dans la partie centrale.

Au sein du liquide on trouve un mycélium lâche restant facilement en suspension, ayant un aspect étoilé, s'irradiant dans tous les sens. On distingue facilement la fine structure des filaments mycéliens constituant ces éléments.

Afin de pouvoir comparer les différents développements des cultures, il nous faut aussi décrire ici l'aspect d'une culture témoin, faite dans les mêmes conditions sur du liquide de RAULIN ne contenant aucun sel de terres rares.

Le témoin, présente dès les premiers jours un développement abondant, toute la surface du liquide est recouverte par un mycélium assez épais, plus ou moins plissé dont toute la partie supérieure, c'est-à-dire la partie émergée, est d'une teinte vert foncée due à la grande abondance des appareils conidiens. Dans le liquide se trouvent des colonies mycéliennes, à filaments peu serrés que l'on distingue bien, donnant l'aspect étoilé que nous avons déjà trouvé dans le cas du sulfate de lanthane.

ASPECT MICROSCOPIQUE : L'examen macroscopique nous ayant montré de grandes différences dans l'aspect des cultures, l'examen microscopique lui, nous montrera exactement comment agissent les sels de terres rares sur la structure mycélienne et qu'elles sont les modifications qu'ils lui font subir.

Nous examinerons d'abord un fragment du mycélium témoin ayant végété à la surface. Avec un fil de platine flambé nous recueillons un morceau de la culture, nous le plaçons sur une lame flambée et à l'aide de deux aiguilles également flambées, nous le dissocions de manière à bien détacher les filaments qui sont réunis en un paquet. Après celà, nous versons sur la préparation une ou deux gouttes de bleu lactique, qui est une solution au millième dans l'acide lactique de bleu coton C 4 B de POIRRIER, et nous chauffons légèrement sur une flamme de veilleuse d'un bec de Bunson, jusqu'à émission de vapeurs, on

retire, on laisse refroidir et on recommence deux ou trois fois le passage à la flamme. On pose une lamelle et la préparation colorée en bleu est prête à être examinée.

TÉMOIN. — Nous examinons à un grossissement de 470; nous constatons un feutrage (Fig. 1) peu serré, formé de longs filaments bien réguliers à cloisonnement très espacé, quelques-uns se terminant par un renflement qui n'est autre qu'un appareil conidien jeune en formation, sur certains de ces renflements, on voit apparaître des stérigmates non complètement développés donnant un aspect dentelé au renflement. Nous trouvons de nombreux conidiophores gris fuligineux, plus foncés vers le sommet où ils se renflent graduellement en tête sphéroïdale de 30 à 40 μ couverte dans la moitié ou les deux tiers supérieurs de basides de 6 à 5 μ. Les conidies sont rondes ou elliptiques de 3 à 5 μ Le protoplasme remplissant exactement les articles se colore régulièrement en bleu, permettant de voir facilement la membrane qui est mince.

En opérant de la même façon, nous examinons le mycélium végétant au sein du liquide. Nous trouvons ici de longs filaments (fig. 2) peu cloisonnés semblables à ceux déjà décrits, se terminant par de petits renflements, ne portant jamais de stérigmates. D'autres filaments cette fois très cloissonnés à articles courts, irréguliers, sinueux, bourgeonnant légèrement par place, constituent une forme de souffrance du Champignon due à la végétation en immersion dans le liquide.

THORIUM. — Nous examinerons à présent un fragment de mycélium ayant poussé en surface sur le milieu au *thorium* après 48 heures d'étuve.

Il est constitué par de longs filaments (fig. 3) tortueux à cloisons rapprochées et par de nombreuses formes spéciales, trapues, à membrane très épaissie, à protoplasme condensé contenant de grosses granulations à l'intérieur, il apparaît parfois, entre deux articles des bourgeonnements plus ou moins accentués. Ce sont des formes toruleuses très caractéristiques. Nous avons trouvé ainsi des filaments à extrémité renflée et des appareils reproducteurs incomplètement développés, un gros renflement supportait seulement des stérigmates très bien formés de5 μ environ, sans spore, l'ensemble mesurant de 22 à 25 μ.

Nous avons cherché à savoir de quoi étaient formées les granulations contenues dans le protoplasme des filaments. Pour celà nous avons traité les préparations par le colorant triple de Gueguen; ce colorant est une dissolution de Sudan III dans le bleu lactique avec addition de teinture d'iode. Il permet de mettre en évidence le protoplasme en bleu, l'amidon en bleu noirâtre et les graisses en rouge vif.

Les préparations colorées par ce procédé n'ont présenté aucune différence avec celles au bleu lactique, les granulations restant bleues, seraient d'origine protoplasmique.

En examinant le mycélium sphérique immergé (fig. 4), nous trouvons à peu près les mêmes formes que dans le cas précédent, des formes toruleuses en grande quantité et quelques filaments atrophiés, finement sinueux, un peu irréguliers. On trouve aussi des petites sphères (fig. 5) de protoplasme à membrane assez épaisse se colorant fortement par le bleu lactique, ne contenant aucune granulation, et prenant naissance par bourgeonnement sur un filament. Certains de ces filaments ne sont qu'une suite de renflements et de masses globuleuses placés bout à bout (fig. 5).

Après 4 jours, un nouvel examen montre la grande abondance des formes toruleuses. On trouve même des masses globuleuses (fig. 6) dans lesquelles le protoplasme s'est fragmenté en 10 ou 12 éléments très nettement visibles, quelques appareils conidiens (fig. 6) de 20 à 25 μ de diamètre, sur lesquels on remarque seulement une rangée de spores.

Des éléments isolés de 6 à 20 μ ovoïdes ou allongés à membrane épaissie, protoplasme à granulations, ressemblant beaucoup à la forme bourgeonnante des levures. Enfin, quelques filaments réguliers mais à cloisons rapprochées.

LANTHANE. — Nous examinerons à présent la culture végétant en surface sur le milieu au *lanthane*. Un fragment recueilli, dissocié et coloré comme précédemment nous montre de nombreux filaments très irréguliers (fig. 7) de 5 à 6 μ d'épaisseur, tortueux, contournés à cloisonnement parfois très rap-

proché. Sur certains articles un bourgeonnement se produit qui donnera en se développant un filament semblable à celui qui lui a donné naissance. On trouve sur quelques-uns de ceux-ci de petites sphères à protoplasme très condensé, fortement colorées ne contenant à l'intérieur aucune granulation. Nous pouvons voir aussi quelques appareils conidiens, mais incomplets ou atrophiés (fig. 7), un renflement de filament supportant quelques stérigmates se trouvant seulement à la partie supérieure du conidiophore et ne supportant pas de spores, celles-ci n'apparaissent guère avant une huitaine de jours et en très petite quantité.

Le mycélium immergé examiné à son tour, est constitué par de nombreux filaments (fig. 8) tantôt réguliers, mais à cloisonnement assez rapproché, tantôt irréguliers, sinueux, cloisonnés et se terminant par un renflement. Ces dernières formes ne sont pas très différenciées de celle du témoin dans les mêmes conditions.

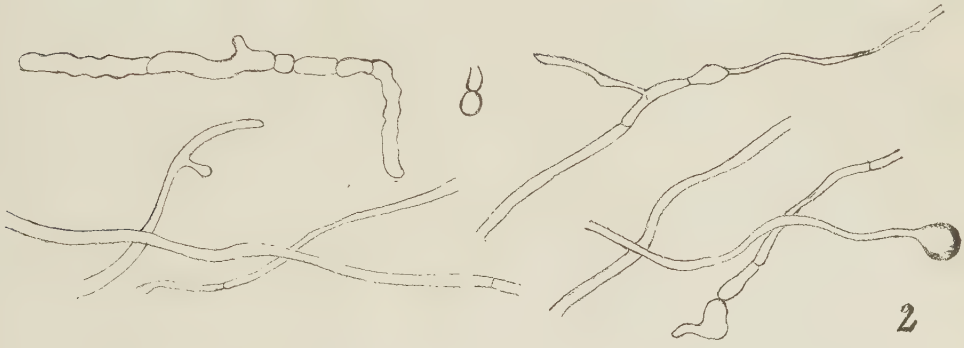
En résumé; le sulfate de *thorium* a une action très nette, sur ce milieu le Champignon végète mal, il souffre, le mycelium prend des formes de souffrance. Les appareils conidiens sont très réduits. atrophiés, ne portant aux extrémités des stérigmates qu'une ou deux spores et leur formation est notablement retardée.

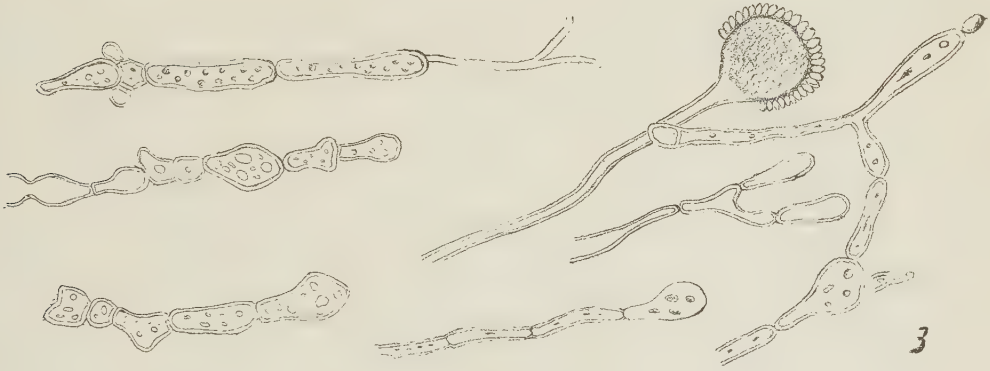
Le sulfate de *lanthane* est moins actif, le mycelium paraît moins souffrir, on ne trouve pas de formes toruleuses et les filaments diffèrent peu de ceux du témoin, si ce n'est par une plus grande irrégularité et un cloisement plus rapproché. Son action se porterait plutôt sur l'appareil conidien qui est à peu près nul, quelques rares conidiophores atrophiés avec très peu de spores. Les aspects macroscopiques et microscopiques des cultures restent les mêmes après 15 jours d'étuve.

Pour vérifier ces expériences nous les avons refaites en cultures cellulaires en employant les mêmes milieux, une goutte de liquide de RAULIN contenant respectivement 1/500ième de sulfate thorium et de lanthane, nous avons retrouvé au bout de quelques jours toutes les formes que nous avons signalées. Nos résultats sont ainsi confirmés.

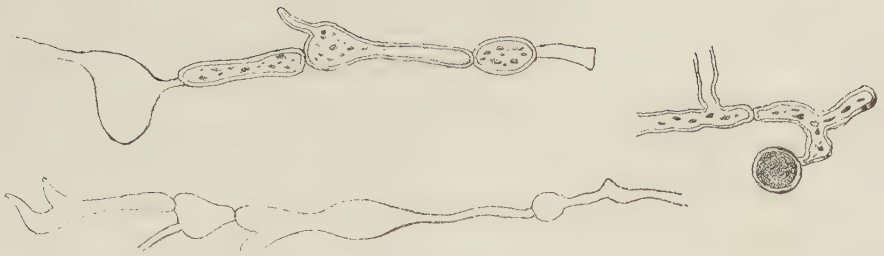
Nous avons ensemencé sur des milieux liquides et solides, un fragment des myceliums des cultures sur milieux au thorium et

1

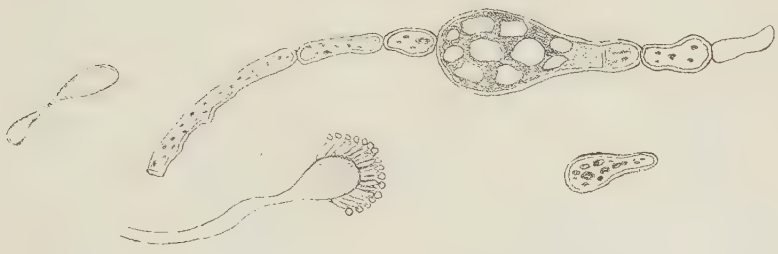

2


3

4



5



6

7

8

au lanthane, nous avons constaté qu'après 18 heures d'étuve à 37° les échantillons prélevés sur ce dernier donnaient des feutrages assez abondants dans lesquels on trouvait de très nombreux appareils conidiens. Les ensemencements faits avec le premier ne montraient aucun indice de développement, ce n'est que 8 heures plus tard que de légers feutrages ont pris naissance et seulement bien après l'apparition des appareils conidiens.

L'action du sulfate de thorium ayant été plus forte, les formes de souffrances plus accentuées, la phase de régénération est naturellement plus longue.

CHAPITRE III

ACTION COMBINEE DE L'AGITATION ET DU SULFATE DE THORIUM SUR L'ASPERGILLUS FUMIGATUS.

Nous avons trouvé dans le précédent chapitre, en examinant macroscopiquement la culture végétant sur milieu au *thorium* au 500ième de fines colonies sphéroïdales. Cette forme spéciale se rencontre généralement dans les cultures poussant dans un milieu agité. Nous avons donc eu l'idée de combiner les actions du sel de *thorium* et de l'agitation. Nous allons exposer ici les résultats que nous avons obtenus.

Nous décrirons d'abord l'appareil nous ayant servi pour obtenir une agitation régulière et continue. Sur un socle métallique sont articulées à l'aide de vis deux pièces de bois, sur lesquelles sont fixées par une de leurs extrémités quatre lames en acier de même grandeur, l'autre extrémité étant fixée et supportant aux quatre coins une planchette horizontale de 0m30 de longueur sur 0m16 de large, cette planchette elle-même se trouvant réunie par une bielle et une manivelle à un volant.

Sur la planchette se trouvent fixées 8 griffes permettant de maintenir solidement de petits ballons à long col de 50 centimètres cubes. Lorsque le volant tourne il communique à l'aide du système bielle et manivelle, un mouvement assez brusque de va-et-vient à la planchette. Nous nous sommes servis comme force motrice d'une turbine à eau, nous permettant de régler comme nous voulions l'agitation, en augmentant ou diminuant le débit. Après quelques essais, nous nous sommes arrêtés au nombre de 85 à 90 secousses à la minute. Dans ces conditions les liquides mis à l'agitation se trouvent remués dans toute leur masse.

Dans la série des ballons, nous avons mis recpectivement 25 centimètres cubes de liquide de RAULIN contenant le 500ième, le 1,000ième, le 2,000ième, le 3,000ième, le 5,000ième, le 8,000ième

et le 10,000ième de leur poids de sulfate de *thorium* et un ballon témoin contenant 25 centimètres cubes de liquide de RAULIN. Les ballons sont mis en place sur la planchette de l'agitateur réglé comme il a été dit et laissés à la température ordinaire.

Nous examinons fréquemment, ce n'est qu'au bout du quatrième jour, que l'on aperçoit sur la culture témoin quelques fragments de mycélium.

Le lendemain le développement s'est légèrement accentué, on distingue des filaments lâches, sans forme, en suspension dans le liquide. On constate aussi un début de végétation dans les solutions du 2000ième au 10,000ième.

Deux jours après, la culture est abondante dans tous les ballons, sauf dans ceux contenant les solutions au 500ième et au 1,000ième où elle est nulle. Au bout de 8 jours, dans tous les milieux ayant cultivé on voit les fragments de mycelium se séparer nettement les uns des autres et prendre tous une forme sphérique assez régulière.

Sur le témoin à côté de nombreuses petites sphères de mycélium très lisses, très compactes, on rencontre d'autres sphères plus grosses, 5 millimètres environ, dont toute la surface est recouverte de gros filaments d'un millimètre de long, donnant un aspect chevelu à la colonie.

La culture sur milieu au 2,000ième présente aussi quelques sphères chevelues, mais en moins grande quantité. Les milieux aux 3,000ième, 5,000ième et 10,000ième donnent une culture abondante, constituée par de nombreuses petites sphères de 3 à 4 millimètres de diamètre, bien formées et assez régulières. Au 8,000ième, nous retrouvons quelques formes chevelues.

Nous constatons aussi qu'après 8 jours d'ensemencement et d'agitation, le milieu au 1,000ième commence à se développer en donnant quelques sphères mycéliennes.

En continuant l'examen, on voit de jour en jour le développement se poursuivre. On a à présent une masse de glomérules réguliers, fins, de 2 millimètres de diamètre, dans les solutions aux 10,000ième, 8,000ième, 5,000ième. Ils sont un peu moins nombreux dans celles au 3,000ième et au 2,000ième, mais légèrement plus gros. Dans le milieu au 1,000ième, ils sont très peu nom-

breux, mais ils deviennent énormes atteignant la grosseur d'un pois englobés dans des amas de filaments non enroulés, chevelus. La culture au 500ième reste stérile.

Le développement continuant, il arrive que le liquide n'est plus en quantité suffisante pour permettre une agitation normale. Dans chaque ballon nous avons un amas de sphères qui n'obéissent que très difficilement aux secousses de l'agitateur, nous retirons donc les ballons contenant les milieux aux 2, 3, 5, 8, 10,000ièmes et le témoin ne laissant que ceux contenant le 500ième et le 1000ième.

Deux jours plus tard, c'est-à-dire 13 jours après l'ensemencement, on aperçoit un début de culture dans le milieu au 500ième.

Continuant nos observations, nous voyons se développer ces sphères, elles sont moins nombreuses, plus petites que dans les autres milieux, elles sont denses, irrégulières, couvertes de filaments et d'aspérités leur donnant un aspect échinulé.

Après 20 jours nous arrêtons l'agitation, le développement des cultures restant stationnaire. Nous pouvons remarquer ici un retard général de plusieurs jours dans l'apparition des premiers éléments mycéliens, cela est dû à la différence de température, nos expériences précédentes ayant été faite à l'étuve à 37°.

Il est à signaler pourtant, que la culture sur milieu au 500ième subit un retard de 8 jours environ, en tenant compte de celui que subit le témoin lui-même; retard qui nous avait laissé croire lors d'une première série d'expériences, que l'action combinée de l'agitation et du sulfate de *thorium* avait pour résultat d'augmenter son pouvoir antiseptique, alors qu'elle rend simplement le développement plus tardif et plus pénible.

Nous avons constaté aussi, tandis que les cultures se formaient, au fur et à mesure qu'elles grossissaient, le dépôt blanchâtre qui était en suspension dans le liquide disparaissait et ce dernier devenait clair et limpide. Un examen microscopique rapide, nous a montré que les filaments mycéliens, à la suite du phénomène mécanique de l'agitation se recouvraient du dépôt, celui-ci formant comme une gaine très adhérente autour d'eux.

ACTION DE L'AGITATION SUR CULTURES AYANT POUSSE EN IMMERSION

Pour vérifier l'action de l'agitation, nous avons ensemencé avec des spores d'*Aspergillus Fumigatus* un ballon contenant 25 centimètres cubes de liquide de RAULIN pur et un autre contenant ce même milieu plus 1/1.000ième de sulfate de *thorium*. Matin et soir nous agitons à la main pendant quelques secondes ces ballons, de manière à forcer les spores à ne donner que des mycéliums immergés. Après 3 jours, apparaissent dans le témoin des filaments lâches, sans forme bien nette, plus ou moins réunis les uns des autres et restant facilement en suspension dans le liquide. Deux jours plus tard apparaissent seulement dans le milieu au 1000ième des amas de filaments informes qui tombent au fond du ballon. Après sept jours de ce développement nous soumettons les cultures à l'agitation. Dès le lendemain le témoin bien développé montre des colonies isolées, dont certaines sont pelotonnées, les autres ramassées, épaisses ayant elles aussi tendance à se mettre en boules. Dans la culture au 1000ième, les amas sont dissociés, chaque filament a un aspect étoilé de 4 à 5 branches très nettement séparées. Le développement se poursuit rapidement et après six jours d'agitation, le témoin montre des formes plus ou moins régulières, ovoïdes, gagnant petit à petit la forme sphérique. Sur milieu au 1000ième les amas se sont épaissis, mais ici ils semblent avoir plus de mal à se mettre en boules.

Nous avons été frappé de la façon dont le développement relativement lent des cultures, a été accéléré du fait de l'agitation.

Après quelques jours, nous avons dû interrompre, le développement étant tellement abondant que l'agitation devenait sans effet.

ASPECT MICROSCOPIQUE DES CULTURES

Si on coupe par le milieu une sphère de la culture témoin, on constate sur la tranche des zones concentriques, le centre étant plus teinté, plus serré que la périphérie donnant ainsi l'impression d'un noyau central. En examinant ces différentes zones au microscope, on constate que la zone périphérique (1) est formée

(1) A. SARTORY. L'influence de l'Agitation sur les champignons inférieurs.

de filaments ténus, feutrés en un tissu très serré; les cloisons sont beaucoup plus rapprochées que pour les cultures fixes. La membrane faiblement épaissie est très nette, le protoplasme est condensé. La zone centrale est formée de filaments à articles courts, arrondis à membrane épaissie, ce qui représentent des formes de souffrance.

Nous retrouvons cette disposition des filaments dans les cultures aux 2, 3, 5, 8 et 10,000ièmes. Dans les cultures aux 500ième et 1,000ième l'aspect est différent.

A l'extérieur, les filaments sont fins, clairsemés, à protoplasme condensé. Au fur et à mesure que l'on examine le mycélium central, les formes changent , les filaments deviennent globuleux, à membrane épaisse, à articles très courts.

On trouve certains filaments très cloisonnés dont le protoplasme d'un article se condense en boule et s'entoure d'une membrane très épaisse.

Ces formes sont surtout très nettes dans la culture au 500ième elles rappellent un peu les formes toruleuses que nous avons décrites dans le chapitre précédent.

Il résulte de ces expériences que l'agitation agissant simultanément avec le sulfate de *thorium*, n'apporte pas de grands changements aux cultures poussant sur milieux aux 2,000ième et 10,000ièmes, mais retarde le début du développement pour celles poussant aux 500ième et 1,000ième tout en facilitant ce développement une fois qu'il est commencé.

CHAPITRE IV

AGGLUTINATION DES SPORES D'ASPERGILLUS FUMIGATUS FR. PAR LE SULFATE DE THORIUM

Ayant constaté une action très nette des sels de Terres rares sur le mycélium de l'*Aspergillus Fumigatus*, nous avons pensé que peut-être ces sels avaient une action spéciale sur les spores, action qui pourrait expliquer le retard que nous avons constaté dans le développement des cultures en présence de ces agents.

Des travaux de FROUIN et MOUSSALLI (1), il ressort que les microbes se trouvent agglutinés plus ou moins rapidement suivant la quantité de sel ajoutée. C'est en voulant déterminer les variations du pouvoir agglutinant du sérum de cobaye sur les spores d'Aspergillus Fumigatus à la suite d'injections de sels de Terres rares, que nous avons été amené à chercher si ceux-ci n'avaient pas eux-mêmes une action agglutinante sur ces spores.

Nos expériences ont été faites en opérant sur des dilutions variant du 100ième au 50,000ième avec les sulfates de *thorium, erbium, lanthane, yttrium, néodyme, praséodyme* et sur une suspension de spores dans l'eau distillée.

Dès les premières expériences, nous avons constaté une action très nette du sulfate de thorium, tandis que rien de semblable ne se passait avec les autres sels, même en variant les doses, les températures et les temps d'action, nous en avons conclu que ces sels étaient sans action sur les spores d'*Aspergillus Fumigatus*. Nous allons exposer ici la technique employée et les résultats obtenus.

Nous avons commencé par faire une série de dilutions de sulfate de *thorium* dans de l'eau distillée: aux 50ième, 100ième, 200ième, 500ième, 1,000ième, 5,000ième, 10,000ième, 15,000ième et 25,000ième.

(1) C. R. Soc. biol. t 82, page 973.

Puis nous nous sommes procurés une suspension de spores en opérant de la façon suivante:

Nous prenons une culture sur pomme de terre âgée de 15 à 20 jours. Nous la retirons du tube à l'aide du fil de platine flambé et nous l'introduisons directement dans un matras stérilisé de 150 centimètres cubes, en évitant d'y ajouter l'eau de la culture.

Nous introduisons ensuite, cinquante centimètres cubes d'eau distillée et nous agitons vigoureusement de manière à entrainer les spores et à les répartir dans le liquide évitant toutefois, en agitant trop fort, de désagréger la pomme de terre et de la réduire en bouillie, l'amidon et les cellules mis ainsi en liberté pourraient gêner et fausser les réactions d'agglutination. Lorsque l'émulsion parait suffisante, nous la filtrons sur un tampon de coton de verre peu serré, placé dans la douille d'un entonnoir, le tout ayant été stérilisé. Le liquide passe assez vite le coton retenant les filaments et les appareils conidiens, on a un liquide trouble contenant les spores en suspension. Nous l'examinons au microscope, nous y trouvons de nombreuses spores pour la plupart isolées ou réunies intimement par 3 ou 4, formant de petits amas. Malgré l'agitation énergique que l'on puisse faire subir au liquide, il est impossible d'isoler totalement toutes les spores, Il en reste toujours quelques-unes en paquets mais nous en tiendrons compte lorsque nous examinerons après l'agglutination, l'aspect étant alors totalement différent.

Dans une série de tubes à hémolyse stérilisés, nous déposons succesivement un centimètre cube des solutions titrées de sulfate de thorium, puis dans chaque tube nous ajoutons ensuite un centimètre cube de la suspension de spores. Nous agitons tous les tubes successivement de manière à rendre le mélange bien homogène, nous obtenons alors un liquide légèrement trouble. Pour chaque série d'expériences figure un tube témoin contenant un centimètre cube de suspension de spores et un centimètre cube d'eau distillée stérilisée. Du fait d'ajouter aux solutions titrées de sel de thorium un centimètre cube de suspension de spores nous diluons ces solutions de moitié, nous avons donc en définitive une série de dix tubes à hémolyse, contenant les dilutions suivantes:

1/100	1/200	1/400	1/1000	1/2000	1/10.000	1/15.000	1/20.000	1/30.000	1/50.000
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Nous numérotons pour plus de facilité ces tubes de 1 à 10, et nous plaçons toute la série et le témoin à l'étuve à 37°.

Au bout de quinze minutes nous observons dans les tubes (4) et (5) un louche blanchâtre formé par de petits flocons très tenus; les tubes (3) et (6) présentent aussi cette particularité mais avec beaucoup moins de netteté.

Après une demie heure nous constatons que dans les tubes (4) (5) et (6) les flocons plus denses s'agglomèrent et que le liquide s'éclaircit. Dans le tube (3) l'agglutination est moins caractéristique. Enfin, après trois quarts d'heure, l'agglutination est totale dans les tubes (4) (5) et (6) le liquide est alors parfaitement limpide, les flocons sont volumineux et tombent au fond. Dans le tube (3) l'agglutination n'est toujours que partielle c'est-à-dire qu'il s'est bien formé quelques flocons mais le liquide reste trouble; dans les tubes (1) (2) (7) (8) (9) (10) et le tube témoin elle est nulle. Nous continuons à examiner de quart d'heure en quart d'heure l'ensemble des tubes, et nous constatons après une heure un quart d'étuve une agglutination totale dans le tube (3) et une très faible agglutination dans les tubes (7) (8) (9) (10), cette agglutination ira en augmentant sans devenir totale. Après deux heures le tube (2) présente également une faible agglutination qui malgré le temps restera partielle. Le tube (1) et le témoin restent identiques, ne présentant aucun changement même après douze heures d'étuve à 37°.

Nous avons renouvelé ces expériences à plusieurs reprises sur des suspensions de spores de souches différentes, en opérant chaque fois sur deux, trois et même quatre séries de dix tubes, nous avons toujours retrouvé les résultats que nous venons d'exposer.

Nous avons contrôlé les agglutinations à l'aide du microscope, nous avons constaté que les flocons sont uniquement constitués par de très nombreuses spores réunies entre elles, sans toutefois se toucher, par un fin reticulum formant ainsi des amas plus

ou moins volumineux. Cet aspect se retrouve dans les tubes ayant donné une agglutination même légère. Le tube témoin examiné à nouveau montre toujours les spores isolées ou réunies par trois ou quatre et se touchant. Cette réunion n'a du reste rien de comparable à celle due à l'agglutination des spores qui est typique et constante.

L'examen microscopique confirme bien l'examen macroscopique. De ces expériences nous pouvons conclure:

1. Que l'agglutination est fort nette du 400ième au 10,000ième.

2. Qu'elle est maximum et rapide aux 1000ième et 2000ième.

3. Qu'au 200ième et aux taux supérieurs au 10,000ième elle est très faible.

4. Qu'elle est nulle avec les solutions très concentrées.

A aucun moment nous n'avons pu obtenir de résultats comparables en employant les sels de *lanthane*, *yttrium*, *erbium*, *néodyme* et *praséodyme*.

L'agglutination est donc bien spéciale au sulfate de *thorium*.

CONCLUSIONS

En résumé nous pouvons tirer de l'ensemble de notre travail les conclusions suivantes :

1. Les sels de terres rares, sulfates de thorium, de lanthane d'erbium, d'yttrium, de néodyme et de praséodyme, possèdent de propriétés antiseptiques très nettes sur les microbes comme l'ont montré FROUIN et MOUSSALI et sur les Champignons inférieurs comme nous l'avons prouvé; à des doses plus élevées toutefois, ces organismes résistant mieux que les bactéries aux agents antiseptiques.

2. Qu'à des doses plus faibles ces sels possèdent une action favorisante, ils donnent aux cultures poussant dans les milieux les contenant, une végétation plus abondante, dont le développement est en raison inverse de la concentration, atteignant un maximum dans les concentrations au 5,000ième pour les sels de *néodyme*, *d'yttrium* et *d'erbium* et au 10,000ième pour les sels de *thorium*, *lanthane* et *praséodyme*.

3. Que la mucédinée réagissait fortement contre l'action antiseptique des sulfates de thorium et de lanthane en donnant des formes spéciales de résistance et de souffrance. Les appareils conidiens sont atrophiés et presque dépourvus de spores, mais le champignon reprend vite son aspect normal dès qu'il se trouve sur un milieu favorable à son développement.

4. L'agitation combinée à l'action du sulfate de *thorium* a pour résultat de provoquer un retard dans le développement du champignon poussant sur des concentrations aux 500ième et 1000ième, mais de favoriser ce développement lorsqu'il est commencé.

5. Une action curieuse du sulfate de thorium en présence de suspension de spores d'*Aspergillus Fumigatus*. Celles-ci se trouvent nettement agglutinées en flocons denses, que l'on dissocie difficilement en agitant les tubes ayant servi à la réaction. L'agglutination varie avec les concentrations de sulfate, elle est maximum et rapide aux 1,000ième et 2,000ième.

Il semble donc par bien des points (actions antiseptique et favorisante, formes de résistance, désagrégation plus ou moins profondes du mycélium, agglutination) que les sels de terres rares agissent sur les champignons comme sur les microbes mais à des doses différentes cependant.

BIBLIOGRAPHIE

BERLIN. — Séparation de oxydes de la cérite (thèse) Gottingen 1864.

DELAFONTAINE. — Le didyme de la cérite est probablement un mélange de plusieurs corps. (Bull. Acad. Sciences T. 87, p. 634 (1873).

DELAFONTAINE. — Sur les métaux de la cérite et de la gadolinite. (Arch. Scien. phys. et nat. T. XXI, p. 97, T. XXI, p. 38. Comptes rendus T. LXXXVII, p. 559).

DELAFONTAINE. — Sur un nouveau métal Le Philippium. Bull. Acad. Scien. T. 78, p. 559 1878).

RADOMINSKI. — Note sur un phosphate de Cérium contenant du fluor. (B. Soc. Chim. p. 3, T. 21, Série 2, 1874).

THOEMSEN. — Sur la chaleur de neutralisation des oxydes de lanthane, de cérium, de didyme, d'yttrium et d'erbium. (Bull. Soc. Chim. T. 21, Série 2, p. 563, 1874).

JOBIN. — Le cérium et ses composés. (Bull. Soc. Chim. Série 2, T. XXI, p. 533 1874).

CLEVE et HOEGLUND. — Contribution à la chimie des métaux rares. Yttrium Erbium. (Bull. Soc. Chim. Série 2. T. XVIII.

CLEVE. — Contribution à la Chimie des métaux rares, Lanthane didyme. (Bull. Soc. Ch. Série 2 T. XXI. T. XXI.X, T. XXXIX.). Yttrium et Erbium (Séie 2 T. XXI, T. XXX IX et comptes rendus T. XCIV et XVC.)

COSSA. — Sur la diffusion du Cérium du lanthame et de didyme. (C. R. Acad. Scien. T. 87, p. 377, 1878.)

ROSCOE. — Sur quelques métaux contenus dans la Samarskite. (Deutsche Chemische Gesellschaft T. 15, p. 1274.)

NILSON. — Sur le thorium métallique. (Deutsche Chemische Gesellschaft T. 15, p. 2537 à 2547.)

MOSANDER. — Recherche sur le cérium. (Ann. de Poggendorf T. XLVI, p. 207 et T. LVI, p. 503.)

SCHUTZENBERGER. — Sur les métaux de la Cérite. (Com. rendus T. C. XX.).

SCHUTZENBERGER — Sur les terres contenues dans les sables. (Com. monazités. (C. R. T. CXXII et C XXIII.).

AUER de WELSBACH. — Monat für Chem. Sur les terres de la Gadolinite. Vol. IV No 7. Vol. V, No 1, 1884.) Sur les terres de la Cérite. (Vol. V. No 8 1884.)

BAHR et BUNSEN. — Sur l'Erbine et l'Yttria. (Ann. der Chem. und Pharm. T. CXXXVII (1) (1886.)

JOB. — Sur les nouveaux composés des métaux de la Cérite. (Soc. Chim. T. 19, Série 3, p. 196 1898.)

BUNSEN. — Séparation des oxydes de didyme et de lanthane. Ann. der Chem. und Pharm. T. LXXXVI et CV.)

BOUDOUARD. — Sur les terres du groupe yttrique. Sur le néodyme. (Bull. Soc. Ch. (3), T. 19, 1898).

BOUDOUARD. — Sur les sables monazités de la Caroline du Nord.

BOUDOUARD. — Sur le Cérium. (Bull. Soc. Chim. (3), T. 19, p. 10 et 59 1898.)

A. FROUIN et Mlle LEDEBT. — Action du Vanadate de soude, des terres rares sur le développement du bacille pyocyanique et la production de ses pigments. C. R. Soc. Biol. T. 72, p. 981, 1912.)

A. FROUIN. — Action des sels de Vanadium et des terres rares sur le bacille tuberculeux. C. R. Soc. Biol. T. 72, p. 1034, 1912.)

SANTON. — Sur sporulation de l'Aspergillus Fumigatus. (C. R. Soc. Biol. t. 74, p. 38, 1813).

FROUIN. — Action des sels de terres rares sur le développement du bacille tuberculeux et de l'Aspergillus Niger. (C. R. Soc. Biol. T. 73, p. 337, 1912).

FROUIN. — Action du sulfate de lanthane sur le développement du bacille Subtilis. (C. R. Soc. Biol. T. 74, p. 196, 1913.)

FROUIN. — Traitement des ulcères variqueux, des métrites chroniques, des chancres mous, par les sels de terres cériques. (C. R. Soc. Biol. T. 74, p. 317, 1913.)

J. CODIN et G. THIRY. — Aspergillus et argent métallique. C. R. Soc. Biol. (Nancy). T. 74, p. 487, 1913.)

L. RENON. — Essai chimique et expérimental sur la chimiothérapie de la tuberculose. Soc. de Thér. 12 Nov. 1913, p. 439.)

FROUIN et ROUDSKI. — Action bactéricide et antitoxique des sels de lanthane et de thorium. Action thérapeutique de ces

sels dans la chlorose expérimentale. (C. R. Ac. Scien. T. 149, p. 410, 1914.)

A. FROUIN et H. AGULHON. — Action favorisante des sels de terres rares sur le développement du bacille tuberculeux. C. R. Ac. Soc. Biol. 20 Mars 1915, p. 129.)

A. MOUSSALLI. — Action de quelques terres rares sur le bacille pyocyanique et les bacilles de la dysenterie. (Thèse), Nancy 1919.)

H. GRENET et H. DROUIN. — Traitement des infections tuberculeuses chroniques par les sulfates de terres cériques. (Bull. Acad. de Méd. T. 83, p. 226, 9 Mars 1920).

A. SARTORY et P. BAILLY. — Action de quelques sels de terres rares sur les cultures d'Aspergillus Fumigatus, Fr. (C. R. Soc. Biol. T. 84, p. 361, 1920).

A. FROUIN et M. GUILLAUME. — Action des sels de rhodium, de bismuth de terres rares et de niobum dans le traitement du Nagana chez la souris. (C. R. Soc. Biol. T. 85, p. 446, 1921.)

A. SARTORY et P. BAILLY. — Du pouvoir agglutinant du sulfate de thorium sur les spores d'Aspergillus Fumigatus, Fr. (Bul. Acad. Scie. 17 Mai 1921).

A. SARTORY et P. BAILLY. — Action de quelques sels de terres rares sur les cultures d'Aspergillus Fumigatus Fr. (Communication au Congrès de l'Assoc. française Avancement des Sciences RENNES 1921).

A. SARTORY et BAILLY. — Influence des sels de terres rares sur la structure du Mycélium de l'Aspergillus Fumigatus Fr. et sur la formation de l'appareil conidien. (C. R. Soc. Biol. 10 mars 1922.)

A. SARTORY et P. BAILLY. — Action combinée de l'agitation et du sulfate de Thorium sur les cultures d'Aspergillus Fumigatus Fr. (C. R. Soc. Biol. 9 Juin 1922.)

S. et G. URBAIN .— Extraction et purification du Scandum de la thorveite de Madagascar. C. R. Acad. Scien. T. 174, No 21, 22 Mai 1922, p. 131.0

DAUVILLIER. — Sur les séries L. du lutécium et de l'Ytterbium et sur l'identification du celtium avec l'élément de nombre atomique 72.) C. R. Acad. Scien. T. 174, No 21, p. 1347, 22 Mai 1922.)

Vu et bon à imprimer,
Strasbourg, le 12 Juin 1922,
Le Président,
A. SARTORY.

Vu et approuvé,
Strasbourg, le 19 Juin 1922,
Le Doyen,
F. JADIN.

Vu et permis d'imprimer,
Strasbourg, le 20 Juin 1922,
Le Recteur,
S. CHARLÉTY.